

Pengembangan Strip Tes untuk Deteksi Pb dalam Jamu Pegal Linu Berbasis Ditizon Secara Scanometri

Diah Yuli Pangesti¹, Ririn Sumiyani², Bambang Kuswandi³

¹Program Studi Magister Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia

²Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Surabaya, Indonesia

³Departemen Chemo dan Biosensor, Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jember, Indonesia

Email : diahyp8@gmail.com; ririn.sumiyani@staff.ubaya.ac.id; b.kuswandi@gmail.com

ABSTRAK

Jamu pegal linu adalah salah satu warisan obat tradisional masyarakat Indonesia yang masih tetap digunakan saat ini. Disatu sisi adanya cemaran logam berat, seperti Pb dalam jamu yang melebihi batas aman akan sangat berbahaya. Dalam konteks ini, maka telah dilakukan pengembangan sensor kimia berbasis pereaksi ditizon dalam bentuk strip tes untuk mendeteksi Pb pada jamu secara *scanometri*. Strip tes dibuat dengan cara mengimmobilisasi pereaksi ditizon 400 ppm – asam askorbat 0,25M pada kertas saring berdiameter 7.0 mm dengan cara ditetaskan 5 µL. Kondisi optimum analisis Pb dalam jamu pada pH 7,0. Dimana strip tes dikeringkan dan dipindai selama 15 menit. Parameter analitis strip tes memberikan nilai sensitivitas 1,559 ppm terhadap ion Pb(II). Linieritas (r) sensor pada rentang 0 – 14 ppm adalah 0,9977. Presisi dan akurasi memenuhi persyaratan ($\leq 7,3\%$ dan 80-100%). Strip tes tidak terganggu oleh logam berat lain (Hg(II) dan Cd(II)) dalam perbandingan 1:1 dan matriks sampel dengan % interferensi $\leq 5\%$, namun sensor terganggu oleh logam lain pada perbandingan 1:10 dan di atasnya. Strip tes dapat digunakan selama 26 hari dalam penyimpanan pada suhu 2-8°C terlindung dari cahaya. Strip tes ini dapat dinyatakan reliabel terhadap metode ICP-AES dalam menentukan Pb(II) dalam sampel jamu, sehingga dapat digunakan sebagai metode alternatif secara cepat untuk deteksi Pb(II) dalam sampel jamu.

Kata kunci : Sensor Kimia, Strip tes, Ditizon, Pb(II), Jamu pegal linu

ABSTRACT

Jamu is one of Indonesian herbal medicines which is still used today. However, the presence of Pb(II) as contaminant in jamu that exceeded the allowable limit can cause harm to human health. In this context, the development of strip test using dithizone for Pb detection in jamu has been developed using scanometry method. The strip test produced by immobilized of 5 μ L dithizone 400 ppm-ascorbic acid 0.25M into 7.00 mm filter paper to produce strip test for Pb(II) ions. The optimum running condition for Hg(II) detection in jamu was at the pH 7. The strip test has response time at 15 minutes. The analytical characteristics for this strip test has a sensitivity at 1.559 ppm of Hg(II). The linearity in the range concentration of 0-14 ppm was 0.9971, with good precision and accuracy ($\leq 7.30\%$; 80 - 110%). The strip test was not interfered by a matrix of jamu and other heavy metals (Hg(II) and Cd(II)) in 1: 1 interference ratio with % interference $\leq 5\%$, and only interfere in the higher ratio $> 1: 10$. The strip test can be used for 26 days when it stored in 2-8°C and protected from the direct light. This strip test was in agreement with ICP-AES method in determination of Pb(II) ions in jamu samples, and can be used as an alternative method for rapid detection of Pb(II) ion in jamu samples.

Keyword: Chemical sensor; Strip test; Dithizone; Pb; Analgesic herbal medicines(Jamu)

1. PENDAHULUAN

Kekayaan hayati yang dimiliki oleh Indonesia kurang lebih 25.000 – 30.000 jenis tumbuhan. Jenis tumbuhan yang telah diketahui manfaatnya untuk pengobatan kurang lebih 9000 jenis tanaman [1,2]. Warta litbang kesehatan tahun 2009 menyatakan Indonesia sebagai Mega Bio Diversity yaitu negara yang sangat kaya dengan hasil alam yang dapat dikembangkan menjadi obat tradisional.

Menurut WHO pada tahun 2003 kurang lebih 80% penduduk di beberapa negara di benua Asia, Afrika serta Eropa menggunakan obat tradisional untuk mengatasi masalah kesehatan[3]. Data RISKESDAS pada tahun 2013 menunjukkan bahwa konsumsi obat tradisional khususnya jamu dalam bentuk sediaan jadi sebanyak 43,9% yang terdiri dari 15,7% rumah tangga menyimpan dan menggunakan obat tradisional dari 35,2% yang menyimpan sediaan farmasi baik obat/obat tradisional[4]. Data Kemenperin pada tahun 2013 omset jamu dari beberapa perusahaan jamu tradisional dalam pasar domestik sudah mencapai 14 triliun rupiah, serta terjadi peningkatan pada tahun selanjutnya sebesar 7,14% [5].

Penggunaan jamu pegal linu sebagai bagian dari obat tradisional harus disikapi dengan bijak karena masih adanya persepsi yang belum sepenuhnya benar bahwa jamu yang menjadi bagian dalam obat tradisional selalu aman, tidak mempunyai risiko terhadap kesehatan dan keselamatan konsumen. Hasil dari beberapa penelitian menyatakan bahwa terdapat penambahan bahan kimia secara tidak sengaja atau kontaminasi bahan asing berupa logam berat[6]. BPOM mempersyaratkan batas maksimum masing-masing logam berat Pb pada obat tradisional sebesar 10 ppm [7].

Analisa terkait kandungan logam berat dalam sediaan jamu pegal linu maupun bahan tanaman yang digunakan pada jamu telah dilakukan dengan menggunakan metode *Atomic Absorbtion Spectrophotometry*(AAS) [3,6,8,9], *Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrophotometry* (ICP-AES)[10], *Inductive Coupled Plasma Optic Emission Spectrophotometry* (ICP-OES)[11,12], *Inductive Coupled Plasma Mass Spectrophotometry* (ICP-MS)[13]. Secara umum metode tersebut, dari sisi kemudahan masih memerlukan tenaga ahli untuk pengoperasian dan biaya yang dikeluarkan masih relatif tinggi [6,14–18]. Sehingga perlu dikembangkan metode yang murah dan sederhana, namun cepat dan akurat.

Salah satu metode deteksi Pb yang dapat dikembangkan berupa sensor kimia yang menggunakan pereaksi ditizon untuk logam Pb dalam *strip test* berbahan kertas. Pereaksi tersebut dipilih karena merupakan zat pengkhelet yang mempunyai sensitifitas baik terhadap Pb. Kompleks yang terjadi antara Pb dengan ditizon akan memunculkan perubahan warna dari hijau keabuan menjadi merah - ungu (violet) [19].

2. METODOLOGI

2.1 Bahan Dan Peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{NaH}_2(\text{PO}_4)_2$, NaOH , HCl , CH_3COONa , CH_3COOH , Ditizon, Silikon dioksida (SiO_2), *Polyvinylalkohol* (PVA), *Polivinilpirolidon* (PVP), Polietilenglikol (PEG), Titanium dioksida (TiO_2), *soluble starch*, metanol, dan acetone merupakan derajat pro analisa (p.a) dari Merck GmbH (Germany), Aquabidest dari PT. Ika Pharmindo (Indonesia), SiO_2 (Satnano Technology Ltd (China)), dan bahan kertas sensor Whatman 42 *filter paper* (No.Cat1442-125) dari GE Whatman (Inggris), bahan blister PVC and PVDC warna putih opak dari PT. Novell Pharmaceutical Laboratories (Indonesia) sebagai bahan *holder*.

Beberapa alat-alat yang digunakan pada penelitian antara lain: *ball pipet*, *beaker glass* (pyrex), labu ukur (pyrex), pipet volume (pyrex), *scanner* (Scanoscan_cannon LiDe 120), neraca analitik (Ohaus), gelas ukur (pyrex), pipet mikro (Gilson& Socorex), botol semprot, *ultrasonic*, *hot plate & stirrer*, pendingin bola, ICP-OES ICAP6200, ICP-AES SHIMADZU 9800 (Jepang), mortir dan stamper.

2.2 Fabrikasi Strip Tes

Strip tes difabrikasi dengan terlebih dulu membuat lapisan sensitif pada kertas, dengan cara mengimobilisasi pereaksi ditizon dengan metode adsorpsi, yaitu dengan meneteskan 5 μL ditizon 400 ppm + Asam Askorbat 0,25M pada kertas saring berdiameter 7,00 mm, kemudian dikeringkan pada suhu ruang. Dalam hal ini dua cara metode immobilisasi dilakukan yaitu spot test (dititiskan sekali semua volume) dan diteteskan sedikit demi sedikit (Layer by layer/LBL). Lapisan sensitif atau membran sensor ini, kemudian di tempel pada bahan pvc/pvdc putih dengan *double tape* 3M, sehingga di hasilkan strip tes yang siap digunakan.

2.3 Persiapan Sampel

Preparasi sampel jamu mengacu pada ICS Unindo (2008)[20] yang dimodifikasi, yaitu dilakukan proses pembasahan sampel dengan menggunakan metanol 1 mL dan larutan dapar pH 7. Kemudian 0,10 g sampel jamu ditimbang secara seksama, dan di masukkan dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan 1 mL metanol, didiamkan selama 15 menit. Setelah itu, ditambahkan 9 mL dapar pH 7 panas hingga tanda batas, kocok dan diamkan selama 30

menit. Larutan kemudian disaring dengan kertas saring, filtrat ditampung dalam beaker glass. Filtrat dimasukkan dalam vial 10 mL.

2.4 Optimasi Strip Tes

Optimasi strip tes berbasis ditizon terdiri dari optimasi konsentrasi dan volume pereaksi, keasaman (pH), serta konsentrasi uji. Optimasi konsentrasi ditizon yang digunakan pada penelitian ini adalah 250 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm, sedangkan untuk optimasi volume digunakan tiga volume yaitu 5 uL, 10 uL dan 15 uL. Pemilihan keasaman kerja yang paling optimum dilakukan pada rentang pH 4 – 9. Konsentrasi uji logam (Pb(II)) yang digunakan adalah 10 ppm.

2.5 Karakterisasi Strip Tes

Karakteristik strip tes yang dilakukan meliputi waktu respon, linieritas, batas deteksi dan batas kuantifikasi (LOD dan LOQ), selektivitas, presisi, akurasi dan waktu pakai.

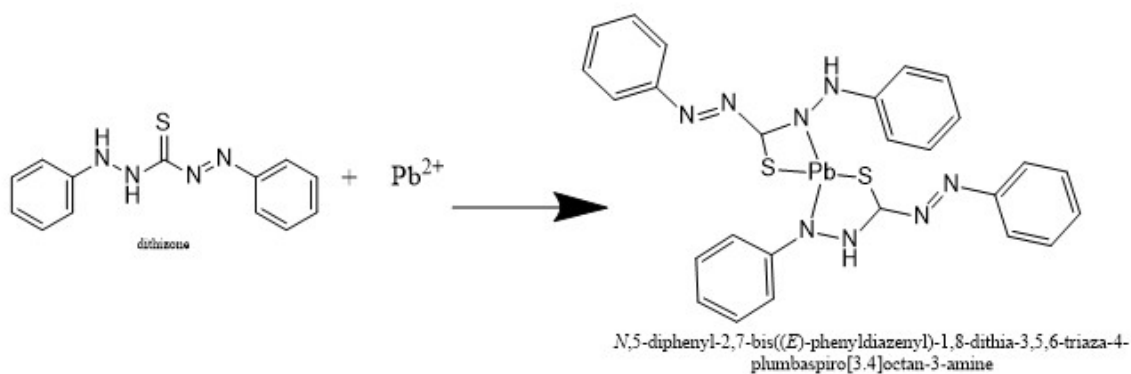
2.6 Aplikasi Strip Tes

Hasil pengukuran ion Pb(II) dalam sampel jamu menggunakan strip tes dibandingkan dengan metode pembanding (ICP-S), menggunakan metode uji homogenitas data Kolmogorov-Smirnov dan Mann Whitney [21] menggunakan program SPSS 13.0.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Mekanisme Reaksi Strip Tes

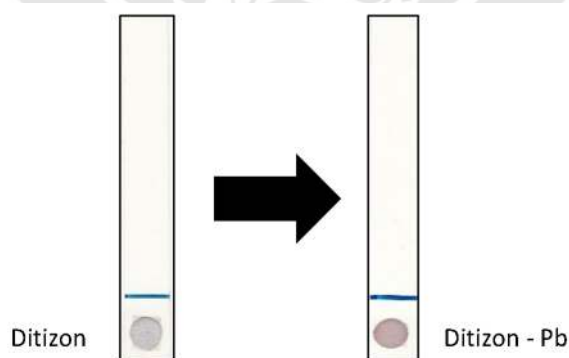
Mekanisme reaksi pada strip tes ini berdasarkan reaksi pembentukan senyawa kompleks (kompleksometri) antara ditizon dengan Pb(II), dalam reaksi tersebut pasangan elektron bebas yang pada pereaksi membentuk ikatan kompleks dengan logam valensi 2 atau 3 [16–18,22], sehingga menyebabkan perubahan warna. Kondisi rentang keasaman (pH) yang berbeda akan menyebabkan perubahan warna yang berbeda pula [22]. Mekanisme reaksi dari pereaksi ditizon dengan ion Pb(II) ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme Reaksi ditizon dengan Pb(II)

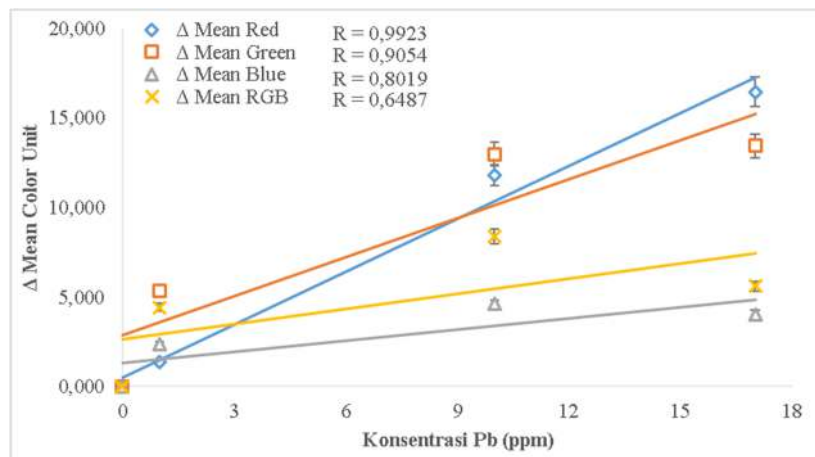
3.2 Respon Strip Tes

Respon strip tes terhadap ion Pb(II) dalam sampel, ditunjukkan dengan perubahan warna dari hijau kebiruan menjadi merah muda yang ditunjukkan pada gambar 2. Dimana intensitas perubahan warna yang dihasilkan sangat ditentukan oleh konsentrasi ion Pb(II).



Gambar 2. Perubahan warna sensor dengan Pb

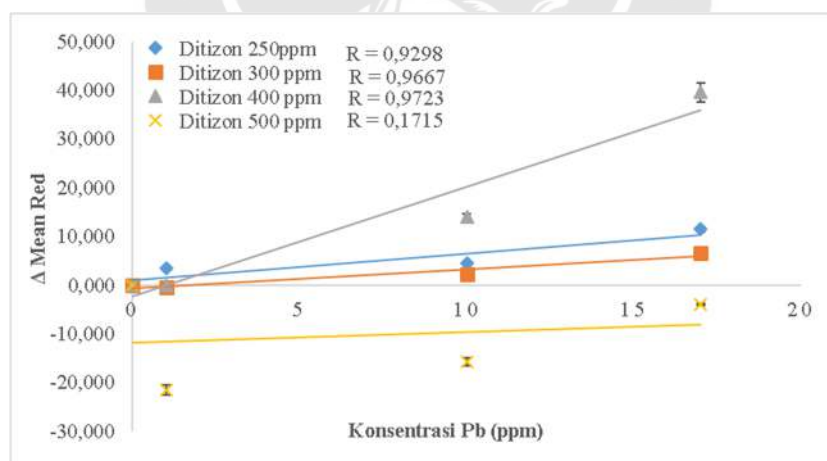
Perubahan tersebut dipindai dengan metode *scanometry* menggunakan program *ImageJ*, hasil respon warna yang diperoleh dibuat grafik dengan sumbu x merupakan konsentrasi masing-masing logam dan sumbu y adalah Δ Mean Color Unit ditunjukkan pada gambar 3. Berdasarkan hasil analysis image tersebut dipilih kurva yang memiliki nilai koefisien korelasi (r) terbesar, yakni Δ Mean Red sebesar 0,9923, sehingga Δ Mean Red digunakan sebagai respon pembacaan strip tes pada pengukuran selanjutnya.



Gambar 3. Kurva hubungan antara konsentrsi ion Pb(II) terhadap respon strip tes

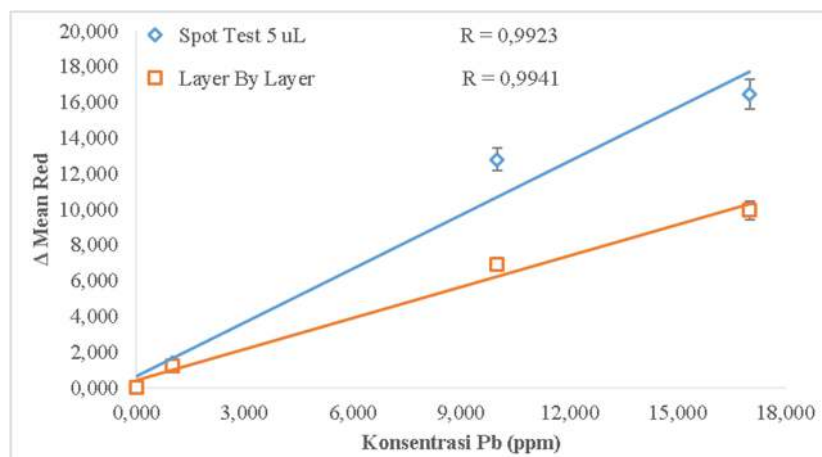
3.3 Optimasi Strip Tes

Hasil optimasi konsentrasi ditizon dapat dilihat pada gambar 4 yang menunjukkan Δ Mean Red ditizon pada konsentrasi 400 ppm memiliki nilai (r) terbesar, yaitu 0,9723, dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Karena itu konsentrasi 400 ppm digunakan untuk preparasi strip test dan pengukuran selanjutnya.



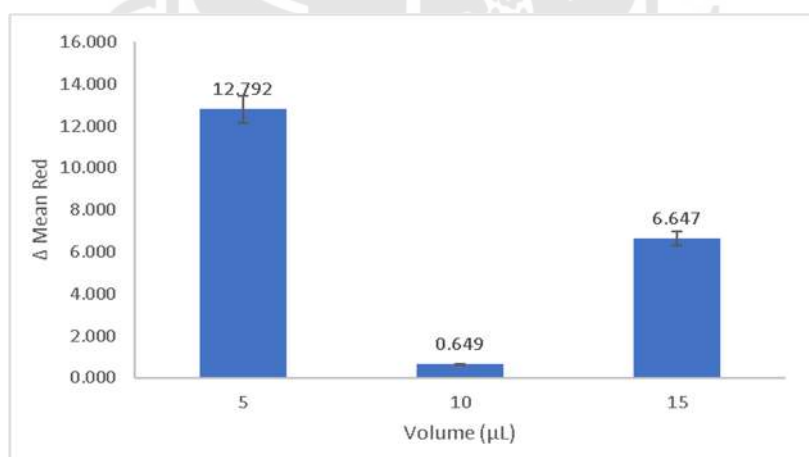
Gambar 4. Pengaruh konsentrasi ditizon terhadap perubahan warna (Δ Mean Red)

Metode immobilisasi terpilih adalah *spot* karena memiliki nilai slop Δ Mean Red yang lebih baik dibanding LBL, yang menunjukkan lebih sensitif dalam merespon perubahan konsentrasi ion Pb(II) yang ditunjukkan pada gambar 5 dan waktu respon yang lebih singkat yakni 15 menit, dengan linearitas yang baik yaitu 0.9923, dan tak jauh beda dari metode LBL. Sehingga untuk fabrikasi strip tes selanjutnya, maka digunakan metode spot tes ini atau sekali penotolan reagem ditizone pada kertas sebagai membran sensor.



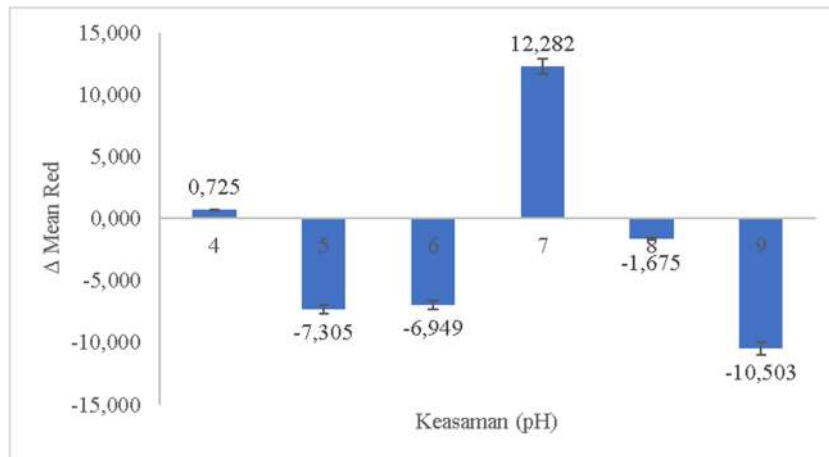
Gambar 5. Perbandingan teknik immobilisasi terpilih ditizon terhadap respon perubahan warna strip tes.

Sedangkan untuk volume reagen ditizon yang digunakan diberikan pada gambar 6, dimana ditunjukkan bahwa volume pereaksi terpilih yang digunakan dan memberikan respon optimum dalam perubahan warna strip tes, yakni 5 μL dengan nilai $\Delta \text{Mean Red}$ sebesar $12,792 \pm 1,532$. Selanjutnya volume reagen ditizon (5 μL) digunakan dalam fabrikasi strip tes untuk pengukuran selanjutnya.



Gambar 6. Efek volume ditizon terhadap perubahan warna ($\Delta \text{Mean Red}$) strip tes.

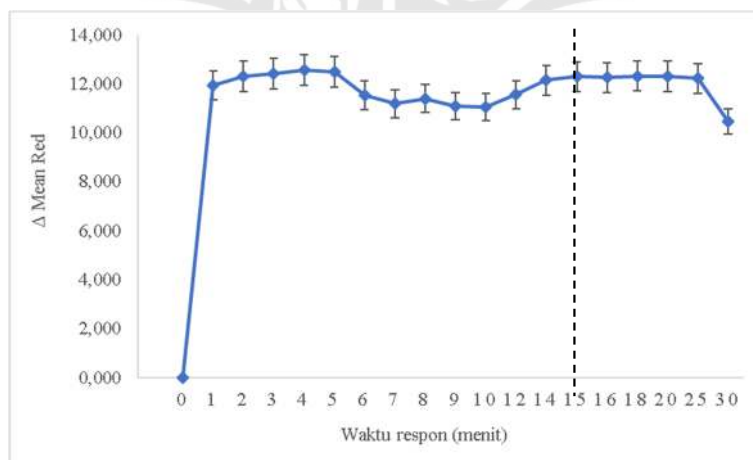
Sedangkan untuk pengaruh pH terhadap respon strip test dalam mendeteksi ion Pb(II) (10 ppm) pada rentang pH 4-9 dapat dilihat pada gambar 7. Berdasarkan grafik tersebut dapat diperoleh bahwa pH optimum dalam penentuan ion Pb(II) adalah optimum pada pH 7.



Gambar 7. Grafik pH kerja sensor terhadap perubahan warna (Δ Mean Red)

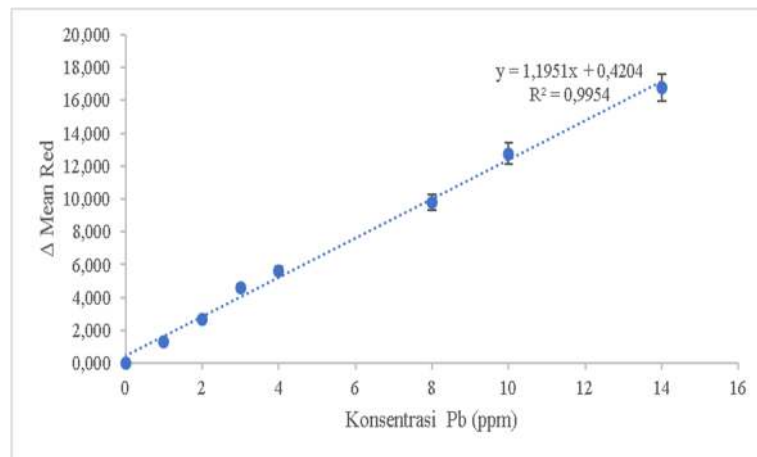
3.4 Karakteristik Analitis Stri Tes

Pengamatan waktu respon dari strip tes terhadap ion Pb(II) dilakukan selama 30 menit dapat dilihat pada gambar 8. Dimana setelah 15 menit perubahan warna yang dihasilkan relatif stabil, sehingga waktu pada menit ke 15, dipilih sebagai waktu perubahan warna strip tes (Δ Mean Red) yang telah relatif stabil.



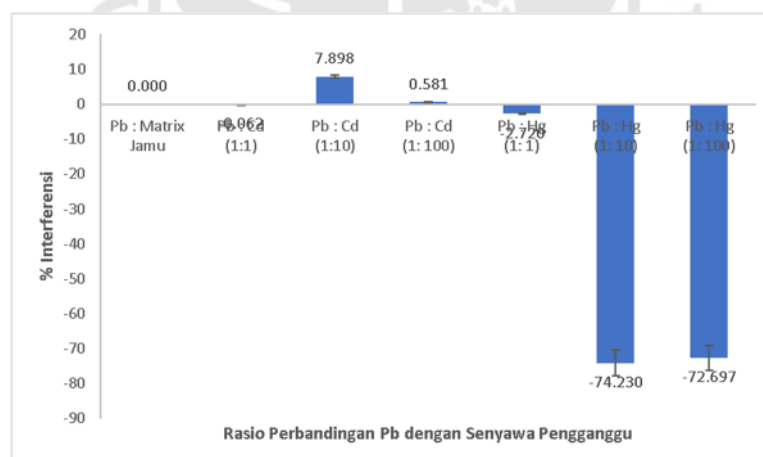
Gambar 8. Waktu respon sensor ditizon terhadap perubahan warna (Δ Mean Red)

Pengukuran linieritas strip test terhadap ion Pb(II) pada rentang 0 – 14 ppm dapat dilihat pada gambar 9, dimana nilai linieritas (r) adalah 0,9977, dan persamaan regresi Perubahan warna strip tes (Δ Mean Red) = $1,1951 [\text{Pb(II)}] + 0,4204$, dengan limit deteksi terhadap ion Pb(II) sebesar 1,559 ppm, dan limit quantifikasi sebesar 4,678 ppm. Sedangkan presisi dari strip tes dalam pengukuran ion Pb(II) sebesar 1,547% ($\leq 7,3\%$) [23], dan nilai rata – rata akurasi strip tes yaitu 100,823%. Sedangkan waktu pakai strip tes bisa digunakan sampai 26 hari pada suhu penyimpanan sensor 2 – 8°C.



Gambar 9. Linieritas perubahan warna strip tes (Δ Mean Red) terhadap konsentrasi ion Pb(II).

Uji selektivitas sensor menunjukkan bahwa matrik jamu dan logam lain pada konsentrasi ujinya tidak memberikan gangguan dengan nilai interferensi $< 5\%$. Logam lain mulai memberikan gangguan pada perbandingan 1: 10 dan 1: 100. Hasil uji interferensi secara keseluruhan ditunjukkan pada gambar 10 hasil tersebut menunjukkan bahwa metode tersebut cukup selektif [24].



Gambar 10. Grafik hasil uji selektifitas sensor terhadap logam Cd dan Hg serta matrik jamu

3.5 Aplikasi Sensor

Hasil yang diperoleh dianalisis terlebih dahulu homogenitas data, dan diperoleh hasil bahwa data seragam ($\alpha > 0,05$) yang dapat dilihat pada tabel 1. Tahap selanjutnya dilakukan uji beda terhadap metode pembandingan ICP-OES dan ICP-AES menggunakan metode non

parametrik *Mann-Whitney* dengan $\alpha = 0,05$ (25), hasil dari uji tersebut menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan hasil kadar logam dari kedua metode pembanding pada logam Pb (α) $> 0,05$. Berdasarkan hasil uji tersebut serta untuk menghindari bias dalam uji terhadap metode yang dikembangkan maka dipilih metode ICP-AES sebagai metode pembanding untuk sensor dalam penelitian ini. Hasil uji beda kadar logam pada sensor terhadap metode pembanding terpilih secara *Mann Whitney* menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistika dari kedua metode tersebut (α) $> 0,05$ yang dapat dilihat pada tabel 1, sehingga sensor Pb dapat dikatakan reliabel.

Tabel 1. Hasil uji keseragaman data strip tes dan metode ICP-S ($n = 4$, $\alpha = 0,05$).

Identitas Sampel	Jenis Logam	Strip test (mg/Kg) ^a	ICP-OES (mg/Kg) ^b	ICP-AES (mg/Kg) ^c	α	$\alpha^{(b \text{ vs } c)}$	$\alpha^{(a \text{ vs } c)}$
IPL	Pb	8,070	4,942	9,471	0,409	1,000	0,885
NRL		0,000	2,656	0,000			
SBT		6,331	4,640	4,799			
YST		30,784	29,936	11,440			

Ket : LOD (Pb) : Strip tes = 1,5594 mg/Kg; ICP-OES = 0,345 mg/Kg; ICP-AES = 0,096 mg/Kg

4. KESIMPULAN

Pengembangan sensor untuk deteksi Pb pada jamu pegal linu dengan menggunakan pereaksi ditizon dalam bentuk strip tes. Sensor memiliki respon linier pada rentang 0 – 14 ppm dengan sensitivitas yang dinyatakan sebagai LOD sebesar 1,559 ppm. Sensor tersebut memiliki presisi dan akurasi yang baik yakni 1,547% dan 100,823%, serta dapat diaplikasikan sebagai metode alternatif untuk deteksi Pb(II) pada jamu pegal linu.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada pihak Universitas Surabaya untuk ijin penelitian yang telah diberikan, pihak Departemen Kimia Farmasi, khususnya *Chemo & Biosensor Group*, Universitas Jember untuk fasilitas penelitian, PT. Novel Pharmaceutical Laboratories untuk bantuan bahan *holder* strip tes.

DAFTAR PUSTAKA

1. Siregar AH. Jamu-tanaman obat Indonesia dari tradisional menuju era biomolekular. Kendal; 2010.
2. Ahmad FA. Analisis penggunaan jamu untuk pengobatan pada pasien di klinik saintifikasi jamu hortus medicus Tawangmangu tahun 2012. Universitas Indonesia; 2012.
3. Siriengkawut W, Sittichan P, Ponhong K, Chantiratikul P. Quality assessment of trace Cd and Pb contaminants in Thai herbal medicines using ultrasound-assisted digestion prior to flame atomic absorption spectrometry. *J Food Drug Anal*;25(4):960–7. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1021949817300327>
4. BALITBANGKES. Riset kesehatan dasar (RISKESDAS) tahun 2013. Jakarta; 2013.
5. Kementerian Perindustrian RI (Kemenperind RI). Kosmetika dan jamu tergerus Impor. In: Kosmetika dan jamu tergerus impor. Jakarta: INSANOKE Kementerian Perindustrian RI; 2016.
6. Husna OL, Hanifah A, Kartika GF. Analisa kandungan logam berat timbal, kadmium, dan merkuri dalam produk jamu pegal linu yang beredar di kota pekanbaru. *JOM FMIPA*. 2015;2(1):130–5.
7. BPOMRI. Peraturan kepala badan pengawas obat dan makanan republik indonesia nomor 12 tahun 2014 tentang persyaratan mutu obat tradisional. 12/2014 Indonesia: Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia; 2014 p. 1–25.
8. Amrulloh AF. Penentuan kadar logam berat timbal (Pb) dalam jamu pegal linu menggunakan variasi zat pengoksidasi secara spektroskopi serapan atom (SSA). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang; 2017.
9. Mustofa MH. Penentuan kadar logam cadmium (Cd) dalam jamu pegal linu menggunakan variasi zat pengoksidasi secara spektroskopi serapan atom (SSA). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim; 2017.
10. Garvey GJ, Hahn G, Lee R V., Harbison RD. Heavy metal hazards of Asian traditional remedies. *Int J Environ Health Res*. 2001;11(1):63–71.
11. Okem A, Southway C, Ndhlala AR, Van Staden J. Determination of total and bioavailable heavy and trace metals in South African commercial herbal concoctions using ICP-OES. *South African J Bot*. 2012;82:75–82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2012.07.005>
12. Sen I, Pendam B V. Determination of heavy metals in five major ingredients of herbal medicines. *Int J Pharm Sci Res*. 2014;5(10):4310–4.

- [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5\(10\).4310-14](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5(10).4310-14)
[http://sfx.umd.edu/hs?sid=EMBASE&issn=09758232&id=doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.5\(10\).4310-14&atitle=Determinat](http://sfx.umd.edu/hs?sid=EMBASE&issn=09758232&id=doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.5(10).4310-14&atitle=Determinat)
13. Lin ML, Jiang SJ. Determination of As, Cd, Hg and Pb in herbs using slurry sampling electrothermal vaporisation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chem.* 2013;141(3):2158–62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.105>
 14. Chowdury MA, Walji N, Mahmud A, Macdonald BD. Paper-Based Microfluidic Device with a Gold Nanosensor to Detect Arsenic Contamination of Groundwater in Bangladesh. *Microfluidics.* 2017;8(71):1–15.
 15. Danwittayakul S, Takahashi Y, Suzuki T, Thanaboonsombut A. Simple detection of mercury ion using dithizone nanoloaded membrane. *J Met Mater Miner.* 2008;18(2):37–40.
 16. Hardani PT. Pengembangan sensor logam berbasis reagen ditizon pada chip kertas untuk deteksi timbal pada jahe (*zingiber officinale*). Universitas Jember; 2013.
 17. Munawaroh L. Fabrikasi sensor merkuri berbasis 1-(2-thiazolylazo)-2 naphthol (TAN) untuk deteksi kontaminasi merkuri (Hg) pada pegagan (*centella asiatica*). Universitas Jember; 2013.
 18. Rachman SA. Pengembangan sensor kadmium berbasis reagen 4-(2-pyridylazo)resorcinol(PAR) pada chip kertas untuk deteksi kontaminasi kadmium pada bawang putih (*allium sativum*). Universitas Jember; 2013.
 19. Marczenko Z. Separation and Spectrophotometric determination of elements. 2th Editio. Chalmers R., Mary M, Miller J., editors. West Sussex: Ellis Horwood Limited; 1986.
 20. ICS and HT (ICS UNIDO). Extraction technologies for medicinal and aromatics plants. Italy: ICS UNINDO; 2008.
 21. S Ligler Frances, Chris Rowe Taitt. Optical Biosensors: Today and Tomorrow. second. Amsterdam: Elsevier; 2008.
 22. Marczenko Z, Balcerak M. Separation, preconcentration and spectrophotometry in inorganic analysis. 1st Editio. Kloczko E, editor. Amsterdam - Lausanne - NewYork - Oxford - Shannon - Tokyo: Elsevier B.V.; 2000.
 23. Huber L. Validation and qualification in analytical laboratories. 2nd Edition. New York: Informa Healthcare USA, Inc.; 2007.
 24. Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya. *Maj Ilmu Kefarmasian.* 2004;117(33):117–35.

25. Miller. James N, Miller JC. Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry. Sixth. Vol. 46, Technometrics. England: Pearson Education Limited; 2010. 498–499 p.

